

Aus der Kinderklinik der Universität Basel
[Vorsteher: Prof. Dr. A. Hottinger].

Theoretische und praktische Fragen der chromosomalen Geschlechtsbestimmung

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

Vorgelegt von

Erika Zdansky

von Wien, Oesterreich

Basel 1958



VERLAG VON S. KARGER IN BASEL

Von der Medizinischen Fakultät Basel genehmigt auf Antrag von Prof. Dr.
A. Hottinger.

Tag der Promotion: 8. März 1957.

Sonderdruck aus «Annales Paediatrici» Vol. 191, No. 1, 1958.

**Theoretische und praktische Fragen der
chromosomalen Geschlechtsbestimmung.**



Einleitung.

Theoretische Grundlagen des chromosomalen Geschlechtsunterschiedes.

Es ist heute schon weitgehend bekannt, daß das genetische Geschlecht eines Individuums in allen Körperzellen festgelegt ist. Jede einzelne Zelle trägt das Geschlechtsmerkmal. Die ersten Beobachtungen in dieser Richtung wurden 1952 von *Barr* und *Bertram* gemacht, die als erste in den Nervenzellen der Katze ein ca. $1\ \mu$ im Durchmesser messendes Gebilde fanden, das dem Nucleolus der Nervenzellkerne anlag und in den weiblichen Kernen größer war als in den männlichen. Später konnten *Graham* und *Barr* zeigen, daß in vielen Zellkernen anderer Organe ein entsprechender Geschlechtsunterschied feststellbar ist. *Moore* und *Barr* (2)

und nach ihnen viele andere Autoren nahmen an, daß dieser Geschlechtsunterschied auf der verschiedenen Größe der heterochromatischen Anteile der Geschlechtschromosomenkomplexe der Somaellkerne beim weiblichen und beim männlichen Geschlecht beruht. Die heterochromatischen Anteile der beiden Geschlechtschromosome bleiben auch in den ruhenden Kernen kompakt, so daß sie nach Verschmelzung von 2 X-Chromosomen sichtbar werden. Nach Verschmelzung eines X- und eines Y-Chromosoms erlangen sie anscheinend nicht die entsprechende Größe und Dichte. Während also die heterochromatischen Anteile eines X-Chromosoms allein oder eines X- und eines Y-Chromosoms zusammen nicht groß genug sind, um von dem übrigen Chromatin unterschieden zu werden, ist der weibliche XX-Komplex gerade groß genug, um als «Sexchromatin» zu imponieren. *Emery* und *McMillan* (3) stützen sich bei dieser Behauptung auf die Beobachtung, daß das Ovulum im menschlichen Ovar, das ja nur ein X-Chromosom enthält, kein Sexchromatin aufweist, wohl aber die umgebenden Follikelzellen. Demnach wäre das Sexchromatin nichts anderes als eine Zusammenballung der heterochromatischen kompakten Anteile der 2 X-Chromosome des weiblichen Zellkerns. Dafür spricht auch die hohe Konzentration von Desoxyribonucleinsäure im Sexchromatin. Der männliche XY-Komplex, der also unter normalen Umständen zu klein ist, um vom übrigen Chromatin abgegrenzt zu werden, tritt nun aber z. B. bei der Chromatolyse in Erscheinung, eine Tatsache, die man, wie wir später hören werden, bei der praktischen Auswertung dieses Geschlechtsunterschiedes berücksichtigen muß.

Morphologie des Sexchromatins.

Wie anfangs erwähnt, wurde das Sexchromatin zuerst in den Nervenzellkernen der Katze entdeckt. Hier erscheint es als der sogenannte Nucleolus-satellit, das heißt ein dem Nucleolus anliegendes Gebilde. In den Zellkernen anderer Organe erscheint das Sexchromatin oft in anderer Form, ebenso in den Organen anderer Species. *Moore* und *Barr* (2) untersuchten das Sexchromatin in den Zellkernen verschiedener menschlicher Organe und stellten vielerlei Varianten in der Morphologie des Sexchromatins fest. So erscheint es größer in Knorpelzellkernen, in den Zellkernen der Nebennierenrinde und der Schilddrüsenfollikel. Manchmal liegt das Sexchromatin der Kernmembran direkt an, in manchen Organen liegt es zwischen der Kernmembran und einem excentrischen Nucleolus, in anderen liegt es dem Nucleolus an. Oft erscheint es scheibenförmig, manchmal dreieckig begrenzt. Und schließlich wiesen *Davidson* und *Smith* (10) 1954 zum ersten Mal darauf hin, daß auch

in den Kernen der segmentkernigen Leucocyten ein wahrscheinlich mit dem Sexchromatin identischer Chromatinkörper vorkommt, der als Kernanhängsel in Form eines Trommelschlegels imponiert.

Praktische Gesichtspunkte.

Solche morphologische Varianten, aber auch quantitative Unterschiede machen es verständlich, daß sich nicht alle Organpräparate gleich gut zur chromosomalen Geschlechtsbestimmung eignen. Wenn man ferner in Betracht zieht, daß für den klinischen Gebrauch nur solche Organe in Frage kommen, von denen am lebenden Individuum leicht entnommen werden kann, und schließlich und endlich in der Praxis auch psychologische Momente zu berücksichtigen sind, ergibt es sich von selbst, daß die Möglichkeiten der chromosomalen Geschlechtsbestimmung in der Klinik beschränkt sind. Für den klinischen Gebrauch kommen eigentlich nur drei «Organe» in Betracht: Haut, Schleimhaut und Blut. Schon die Hautbiopsie ist aber ein immerhin nicht ganz kleiner Eingriff und oft vor dem Patienten nicht zu rechtfertigen. Für Reihenuntersuchungen aus wissenschaftlichem Interesse kommt er überhaupt nicht in Frage, und auch in diagnostisch wichtigen Fällen wird man es sich überlegen müssen, ob es nicht psychologisch besser wäre, dem Patienten diesen Eingriff zu ersparen, vielleicht schon, um ihn nicht näher informieren zu müssen über den Zweck dieser Untersuchung. Nach unserer Erfahrung kommt man aber auch in zweifelhaften Fällen ohne Hautbiopsie aus, indem man sich auf die Beobachtung des Vorhandenseins oder Nichtvorhandenseins des Sexchromatins in den Epithelzellkernen des Mundschleimhautabstrichs und der «Drumsticks» an den Leucocytenkernen im Blutaussstrich beschränkt. Theoretisch sollte natürlich auch eine dieser beiden Methoden genügen, praktisch zeigt es sich aber, daß jede dieser Methoden ihre technischen Schwierigkeiten, Mängel und auch Fehlerquellen besitzt, so daß man sich, um einwandfreie Resultate zu erhalten, nicht mit einer Methode allein begnügen sollte. Bis jetzt haben sich die meisten Kliniken und wissenschaftlichen Institute auf nur eine Methode gestützt und diese ausschließlich verwendet, z. B. in der Aufklärung der Diagnose verschiedener Intersexformen. Wir glauben, daß diese Einseitigkeit im Interesse der Kranken nicht aufrechterhalten werden sollte, daß es vielmehr zur Erlangung einer einwandfreien Diagnose des chromosomalen Geschlechtes nötig ist, wenigstens 2 Methoden routinemäßig anzuwenden. Auf die Schwierigkeiten der einzelnen Methoden werden wir später noch zurückkommen und uns jetzt der Technik zuwenden.

Methodik.

Anfertigung und Färbung der Präparate.

Wie eingangs erwähnt, stellt das Sexchromatin nichts anderes dar als das Chromatin des Geschlechtschromosomenkomplexes. Wie jedes Chromatin färbt es sich mit basischen Farbstoffen und gibt eine positive Feulgen-Reaktion. Daraus ergeben sich verschiedene Möglichkeiten der färberischen Darstellung,

die auch je nach Untersuchungsmaterial verschieden günstig sind. Der große Vorteil der Feulgen-Färbung ist der, daß es sich hier nicht eigentlich um eine Färbung, sondern um eine histochemische Reaktion handelt, die spezifisch ist für echte Aldehydgruppen. Nicht alle Nucleinsäuren enthalten solche Aldehydgruppen, daher unterscheidet man solche, die die Nuclealreaktion geben, und solche, die sie nicht geben. Außer durch die Kohlehydratkomplexe unterscheiden sich die die Nuclealreaktion gebenden von den die Nuclealreaktion nicht gebenden Nucleinsäuren (z. B. der Ribonucleinsäure des Nucleolus oder den Nucleinsäuren der Bakterien) durch die stickstoffhaltigen Bausteine. Durch die saure Hydrolyse bei der Feulgen-Färbung werden diese Purinkörper abgespalten, wodurch die Aldehydgruppen frei werden. Diese geben eine Reaktion mit fuchsin-schwefeliger Säure durch Verbindung mit Stickstoffsulfinen unter Bildung eines violetten Farbstoffs. Diese Reaktion nannte *Feulgen* Nuclealreaktion, heute ist sie allgemein unter der Bezeichnung Feulgen-Reaktion bekannt (24). Sie wird also nur von bestimmten Nucleinsäuren gegeben und ermöglicht daher eine isolierte Darstellung des Zellkerns und des Sexchromatins, also derjenigen Zellbestandteile, die Desoxyribonucleinsäure enthalten. Bei der Färbung mit basischen Farbstoffen hingegen färben sich auch andere Nucleinsäuren und Bestandteile des Zellprotoplasmas an, was für die Identifizierung des Sexchromatins oft sehr hinderlich ist.

Wir verwendeten für die Färbung der Mundschleimhautabstriche zuerst die von *Lupatkin* und *Prader* (23) angegebene Kresylechtviolett-färbung, sind aber bald davon abgekommen, denn durch die Anfärbung der Bakterien, des Nucleolus und anderer Bestandteile des Mundschleimhautabstrichs einerseits und die zu intensive Färbung der Zellkerne selbst andererseits entstehen so viele Verwechslungsmöglichkeiten mit dem Sexchromatin, daß die Zahlen, die wir erhielten, uns oft keine sichere Diagnose des chromosomalen Geschlechtes erlaubten (siehe Tabelle). Bezüglich der Technik der Kresylechtviolett-färbung verweisen wir auf die Angaben von *Prader* und *Lupatkin* (23).

Jetzt verwenden wir zur Färbung der Mundschleimhautabstriche die Feulgen-Methode, die wir im folgenden kurz in ihrer praktischen Ausführung skizzieren möchten.

1. Der mit 1 Tropfen Eiweißglycerin auf dem Objektträger ausgestrichene Abstrich wird entweder in 95% Alkohol oder noch besser in modifizierter Davidson'scher Lösung (20 Teile Formalin, 30 Teile 95% Alkohol, 10 Teile Eisessig, 30 Teile Aqua dest.) 24 Stunden fixiert. Um die Fixation zu beschleunigen, kann man auch im Alkoholdampf fixieren. Man läßt das Präparat so lange im Alkoholdampf, bis es fluoresziert, und legt es dann $\frac{1}{2}$ Stunde in 95% Alkohol ein.

2. Das Präparat wird ca. 1 Minute lang in 70% Alkohol gelegt.

3. 2—3maliges Eintauchen in Aqua dest.

4. Kurzes Eintauchen in n-Salzsäure.

5. Saure Hydrolyse: Das Präparat wird bei konstanter Temperatur von 60° 4—10 Minuten (je nach den Bedingungen, unter denen gearbeitet wird) in n-Salzsäure gelassen. Bei uns ergab eine Hydrolyse von 8—9 Minuten die besten Resultate.

6. Nochmaliges kurzes Eintauchen in kalte n-Salzsäure.

7. 2—3maliges Spülen mit Aqua dest. zum Auswaschen der Säure.

8. «Färbung»: mit fuchsinschwefeliger Säure (Schiff'sches Reagens) 1½ Stunden im Dunkeln.

9. Spülen mit SO₂-haltiger Spülflüssigkeit 3mal je 2 Minuten.

10. Spülen mit Brunnenwasser 5—10 Minuten, wobei das Wasser gewechselt werden sollte.

11. Entwässern mit aufsteigenden Alkoholkonzentrationen; durch aufeinanderfolgendes Eintauchen des Präparates in 70%, 96%, 100% Alkohol und zuletzt in Xylol (jedes ungefähr eine Minute).

12. Einbetten des Präparates in Dammarharz oder Kanadabalsam.

Die fuchsinschwefelige Säure oder das Schiff'sche Reagens stellt man dar, indem man SO₂ in eine Lösung von Fuchsin einleitet, bis zur Entfärbung stehen läßt und dann den Überschuß der schwefeligen Säure entfernt. Praktisch wird folgendermaßen vorgegangen: Man löst 1 g basisches Fuchsin in 400 ccm kochendem Aqua dest., kühlt auf 50° ab, filtriert, fügt dem Filtrat 1 ccm Thionylchlorid bei und läßt es 12 Stunden im Dunkeln stehen bis zur Entfärbung. Zur restlosen Klärung schüttelt man ca. 1 Minute lang mit 2 g aktivierter Tierkohle aus und filtriert noch einmal. Das Reagens ist im Eisschrank aufzubewahren und möglichst im Dunkeln zu benutzen. Alles, was die schwefelige Säure zum Verschwinden bringen könnte, muß vom Reagens ferngehalten werden, zum Beispiel Basen, Salze mit schwachen Säuren, SO₃-Ionen fällende Stoffe wie Ba-Ionen usw. Die Spülflüssigkeit muß SO₂-haltig sein, sonst tritt Rotfärbung auch ohne Aldehyde ein. Man stellt sie her, indem man 200 ccm Brunnenwasser mit 10 ccm einer 10%igen Lösung des käuflichen wasserfreien Natriumbisulfit und 10 ccm n-Salzsäure vermischt.

Zur Technik der Entnahme des Mundschleimhautabstriches wäre noch zu bemerken, daß man, am besten mit einem Objektträger, ziemlich fest an der Innenseite der Wange schaben muß, um genügend Material zu erhalten. Bei Säuglingen empfiehlt es sich, den Abstrich mit einem möglichst scharfen Spatel zu entnehmen.

Auch die Leucocytenkerne in Blutaussstrichen können nach der Feulgen-Methode sehr schön zur Darstellung gebracht werden. Mindestens ebenso geeignet zur Darstellung des Sexchromatins in den Kernen der weißen Blutzellen ist aber die gewöhnliche May-Grünwald-Giemsa-Färbung, die in diesem Fall nichts anderes als eine Kernfärbung mit basischen Farbstoffen ist. Wie wir schon früher erwähnt haben und später noch näher ausführen werden, tritt das Sexchromatin hier in Form von Anhängseln der Leucocytenkerne auf und stellt sich daher, separiert vom Kern, in ganz typischer Form dar, was seine Identifizierung auch mit einfachen Färbemethoden ermöglicht. Außerdem ist im Blutaussstrich ja jede Verwechslungsmöglichkeit durch Verunreinigungen, Bakterien, Überlagerung von Kernen ausgeschlossen, so daß man mit der kombinierten May-Grünwald-Giemsa-Färbung sehr gut auskommt.

Um den «Arbeitsgang» einer solchen doppelten Bestimmung des chromosomalen Geschlechts etwas abzukürzen, haben wir in letzter Zeit statt eines Blutaussstrichs ein Leucocytenkonzentrat gefärbt und konnten auf diese Art und Weise mit Leichtigkeit in 15 Minuten 500 Neutrophile differenzieren. Allerdings braucht man dazu Venenblut, was den Ablauf einer Routineuntersuchung wieder erschwert und außerdem bei Säuglingen und kleinen Kindern oft lieber vermieden wird. Wir haben unsere Untersuchungen mei-

stens an gewöhnlichen Ausstrichen des peripheren Blutes gemacht und nur bei einigen größeren Kindern oder bei besonderem Zeitmangel Venenpunktionen vorgenommen. Man benötigt dazu ca. 4,6 ccm Venenblut, das man mit 0,4 ccm Heparinlösung ungerinnbar macht. Das heparinisierte Blut wird zentrifugiert, aus der Leucocyten-schicht eine kleine Menge abpipettiert und auf einen Objektträger wie gewöhnlich ausgestrichen und nach May-Grünwald-Giemsa gefärbt. Man sieht in einem solchen Präparat ca. 10 Leucocyten in einem Gesichtsfeld, und es ist begreiflich, daß die Differenzierung so relativ kurze Zeit in Anspruch nimmt.

Es gibt noch andere Färbemethoden zur Darstellung des Sexchromatins bzw. der Desoxyribonucleinsäure, z. B. die Methylgrünpyroninfärbung und die Thioninfärbung. Wir wollen hier darauf nicht näher eingehen, da man sich in einem klinischen Betrieb ja sowieso mit Spezialmethoden ziemlich beschränken muß und wir hier vor allem die klinische Praxis der chromosomalen Geschlechtsbestimmung darstellen möchten.

Chromosomale Geschlechtsbestimmung aus den Epithelzellkernen der Mundschleimhaut.

Identifizierung des Sexchromatins:

Aus dem zu Beginn Gesagten über die Natur des Sexchromatins ergibt es sich zwangsläufig, daß jeder einzelne Zellkern des weiblichen Organismus mit Ausnahme des Ovulums das Sexchromatin aufweisen sollte, denn jeder Kern enthält ja neben den andern Chromosomen auch das Geschlechtschromosomenpaar. Dies ist nun nach unseren Beobachtungen und den Beobachtungen vieler anderer Autoren bei weitem nicht der Fall. Nach *Graham* (16) beruht das auf der «Unmöglichkeit einwandfreier Färbung und Fixation». Man kann sich ja gut vorstellen, daß in einem Schnitt oder Abstrich, die uns ja nur ein flächenhaftes Bild vermitteln, das Sexchromatin in einem Kern so gelagert ist, daß es nicht gerade getroffen wurde oder daß man es nicht sicher von anderen Chromatinbröckeln, die vor allem bei in Auflösung begriffenen Kernen auftreten, unterscheiden kann. Man sollte daher nur gut erhaltene Kerne betrachten, d. h. solche, deren Chromatin homogen angefärbt ist und die eine ungeschrumpfte, uneingerissene, also vollkommen intakte Kernmembran besitzen und nicht von anderen Kernen überlagert sind. Durch diese Auswahl entstehen natürlich wieder Schwankungen der quantitativen Verhältnisse des Sexchromatins in weiblichen Zellkernen. Die voneinander so abweichenden Angaben in der Literatur finden ihre Erklärung in der verschiedenen «Zähltechnik» der Autoren.

Manche Autoren zählen nur die der Kernmembran im Schnitt direkt anliegenden Chromatinverdichtungen, andere bezeichnen auch die von der Kernmembran weiter entfernten oder sogar in der Mitte des Kernes liegenden Chromatinbröckel als Sexchromatin. Selbstverständlich kann die Lage «in der Mitte» durch die Lagerung des Kernes bzw. der ganzen Zelle bedingt sein, so daß eine scheinbar nicht der Kernmembran anliegende Chromatinverdichtung mit dem Sexchromatin identisch sein kann. Es empfiehlt sich in solchen Fällen, auch die Form des Chromatinkörpers zu beachten, da das Sexchromatin entweder dreieckig oder ovalär geformt erscheint oder sogar noch die zwei Komponenten des XX-Komplexes erkennen läßt. Die Erfahrung lehrt, daß die Verwechslungsmöglichkeit mit Zusammenballungen des gewöhnlichen Chromatins, z. B. bei beginnender Pyknose des Kernes, viel größer ist, wenn man auch die nicht der Kernmembran unmittelbar anliegenden und atypisch geformten Chromatinbröckel mitzählt. Tut man dies nämlich, so findet man auch bei männlichen Zellkernen oft einen prozentualen Anteil von 10 oder mehr Kernen mit «Sexchromatin», was unmöglich richtig sein kann, denn theoretisch sollte kein einziger Zellkern des männlichen Organismus das Sexchromatin bzw. den XX-Komplex des Geschlechtschromosomenpaares aufweisen. *Barr, Bertram* und *Crouch* (2) zeigten, daß das weibliche Sexchromatin sich während der Chromatolyse vergrößert und in männlichen Kernen eine in Größe und Form dem Sexchromatin entsprechende Chromatinverdichtung auftritt, was übrigens auch ein Beweis dafür ist, daß es eigentlich nur der Größenunterschied der Geschlechtschromosome ist, der uns die Unterscheidung von männlichen und weiblichen Kernen ermöglicht. Man erkennt aus dieser Beobachtung aber auch, daß es keineswegs unmöglich ist, auch in Präparaten männlicher Individuen in einigen Prozent der Kerne ein «Sexchromatin» zu finden. Wenn man noch in Betracht zieht, daß auch bei kritischer Beobachtung Zusammenballungen des gewöhnlichen Chromatins genau so aussehen und gelagert sein können wie das Sexchromatin, so versteht sich von selbst, daß Werte von 1—3% innerhalb der Fehlergrenze der Methode liegen.

Aus dem eben Gesagten ergibt sich, daß es im Interesse einer möglichst exakten Zählung ist, möglichst gut gefärbte und von Verwechslungsmöglichkeiten freie Präparate zu erhalten. Wir sind der Meinung, daß dies mit der Feulgen-Färbung der Mund-

schleimhautabstriche erreicht werden kann, hingegen nicht mit der Kresylechtviolett-färbung, wie aus unserer Tabelle ersichtlich ist.

Resultate:

Wir haben beide Methoden an 41 Kindern angewendet und fanden mit der Feulgen-Färbung bei männlichen Individuen nie in mehr als 2%, im Durchschnitt in 0,62% einen dem Sexchromatin ähnlichen Chromatinkörper. Bei weiblichen Individuen konnte in 50—75%, im Durchschnitt in 60,2% der Kerne das Sexchromatin festgestellt werden.

Mit der Kresylechtviolett-färbung fanden wir das Sexchromatin bei Mädchen in 12—58%, im Durchschnitt in 39,6% der Kerne des Mundschleimhautepithels, bei Knaben in 0—10%, im Durchschnitt in 2,25% der Kerne.

Lupatkin und *Prader* (23) fanden das Sexchromatin bei Kresylechtviolett-färbung der Mundschleimhautabstriche von weiblichen Individuen gar nur in 16—64%, im Durchschnitt in 26,8% der Zellkerne. Das ist kein signifikanter Unterschied gegenüber — nehmen wird den Extremwert aus unserem Material — 10% bei männlichen!

Zu Beginn unserer Untersuchungen arbeiteten wir nur mit der Leucocytenmethode und der von *Lupatkin* und *Prader* (23) angegebenen Mundschleimhautmethode. Bei den 5 Mädchen fanden wir im Durchschnitt in 31,6% der Kerne das Sexchromatin, bei den 5 Knaben in 1,6%. Bei 23 Kindern, bei denen wir außer der Leucocytenmethode nur die Feulgen-Färbung der Mundschleimhautabstriche verwendeten, fanden wir bei den 11 Mädchen im Durchschnitt in 62,9% der Kerne das Sexchromatin, bei den 12 Knaben in 0,5%. Diese Zahlen zeigen eindeutig, daß die Feulgen-Färbung der Kresylechtviolett-färbung unbedingt überlegen ist, da es im Interesse einer exakten Diagnose ist, den tatsächlichen Verhältnissen möglichst nahezukommen, nämlich der Anwesenheit des Sexchromatins in 100% der weiblichen Zellkerne und in keinem einzigen der männlichen.

Zähltechnik:

Praktisch gingen wir bei der Beurteilung der Mundschleimhautabstriche folgendermaßen vor: Wir zählten immer 100 Kerne aus und merkten uns jeweils an, ob es sich um einen Kern mit oder ohne Sexchromatin handelte.

In Präparaten weiblicher Individuen findet man auf diese Art und Weise immer in mehr als 50% der Zellkerne das Sexchromatin, in Präparaten männlicher Individuen meistens gar keines.

Bei genügend umfassender Zählung und entsprechender Auswahl der Kerne kommt man den theoretischen Verhältnissen erfahrungsgemäß am nächsten. Die Diagnose des chromosomalen Geschlechts wird nie auch nur die geringsten Schwierigkeiten bereiten.

Chromosomale Geschlechtsbestimmung aus den Kernen der neutrophilen Leucocyten.

Identifizierung des Sexchromatins:

Theoretisch sollte auch jeder Leucocytenkern eines weiblichen Individuums das weibliche «Merkmal» des Sexchromatins enthalten. Praktisch findet man aber quantitative Verhältnisse in ganz anderer Größenordnung als z. B. in den Kernen der Epithelzellen. *Davidson* und *Smith*, die die Verhältnisse in den Leucocytenkernen erstmalig beschrieben haben, und nach ihnen viele andere Autoren erhielten Zahlen in der Größenordnung von 3% für das weibliche Merkmal in den Kernen der neutrophilen Leucocyten. Die gleichen Autoren (10) machten eine Beobachtung, die dieses Abweichen von den Verhältnissen an den Kernen aller anderen Organe erklärt. Wie wir zu Beginn dieser Arbeit kurz erwähnt haben, tritt das Sexchromatin in den Kernen der neutrophilen Leucocyten in Form der sogenannten Drumsticks auf, das sind Kernanhängsel, die die Gestalt eines Trommelschlegels haben. Diese Drumsticks stellen aber nicht die einzige Erscheinungsform des Sexchromatins in den Leucocyten dar. *Davidson* und *Smith* fanden eine in Form und Größe dem Sexchromatin in den Epithelzellkernen ähnliche Chromatinmasse an der Kernmembran der Leucocytenkerne. Nun haben aber die Kerne der weißen Blutzellen bekanntlich eine sehr inhomogene Struktur und unregelmäßige Begrenzung, so daß die Autoren es oft sehr schwer fanden, die weiblichen von den männlichen anhand dieser Chromatinverdichtung zu unterscheiden. Es ist auch eine bekannte Tatsache, daß die Neutrophilen die Tendenz haben, Lappen und Anhängsel zu bilden. Daher glauben *Davidson* und *Smith*, daß auch das Sexchromatin der weiblichen Leucocytenkerne manchmal abgeschnürt wird und, vom Kern separiert, in Form der Drumsticks auftritt. Die Beobachtung, die andere Autoren (19) gemacht haben, daß mit zunehmender Linksverschiebung, also abnehmender

Segmentierung und Lappenbildung der Leucocyten, die Anzahl der Drumsticks wesentlich abnimmt, und unsere Beobachtung der starken Übersegmentierung der Neutrophilen bei einem männlichen Fall von Gonadendysgenesie (siehe Tabelle Nr. 49), bei der bekanntlich in weiblichen Fällen die Anzahl der Drumsticks oft sehr hoch ist, sprechen auch dafür, daß die Drumsticks nur eine besondere Erscheinungsform des Sexchromatins sind, und bestätigen so die Annahme *Davidson's* und *Smith's*. In dieser Form ist jedenfalls jede Verwechslungsmöglichkeit mit anderen Chromatinmassen ausgeschlossen, und man besitzt ein eindeutiges Unterscheidungsmerkmal zwischen männlichen und weiblichen Zellkernen. Andererseits ist es klar, daß sich mit dieser Auswahl die zahlenmäßigen Verhältnisse sehr verändern im Vergleich zu den Resultaten bei der Zählung des Sexchromatins in den Epithelzellkernen der Mundschleimhaut. Die Zahlenangaben in der Literatur schwanken ziemlich stark. Das liegt an der verschiedenen «Auswahl» der einzelnen Autoren. Außer den Drumsticks gibt es nämlich noch eine Anzahl anderer Kernanhängsel, die erfahrungsgemäß nichts mit dem Sexchromatin zu tun haben und daher auch in den Leucocytenkernen männlicher Individuen vorkommen.

Besonders leicht mit den Drumsticks zu verwechseln sind die sogenannten Small clubs, die die gleiche Form wie die Drumsticks, also einen Stiel mit einem oben aufsitzenden Köpfchen, aufweisen, aber kleiner sind. Sie werden häufiger in Blutaussstrichen männlicher Probanden gefunden. Die sogenannten Sessile nodules werden von vielen Autoren als einwandfrei weibliches Merkmal, also als identisch mit dem Sexchromatin dargestellt. In der Größe entsprechen sie den Drumsticks, und es wäre denkbar, daß das Sexchromatin auch einmal in dieser Form auftritt. Wenn sie auch viel zahlreicher beim weiblichen Geschlecht auftreten, haben wir doch auch in Blutaussstrichen männlicher Individuen Sessile nodules gefunden. Auch *Wiedemann* und Mitarb. (20) haben diese Beobachtung gemacht und sehen daher die ungestielten Sessile nodules nicht als eindeutig weibliches Merkmal an.

Eine weitere Form der Kernanhängsel sind die Rackets, so genannt, weil sie die Form eines Tennisschlägers haben, also etwas größer sind als die Drumsticks und ein aufgehelltes Zentrum zeigen. *Davidson* und *Smith* fanden sie häufiger in männlichen Zellkernen, wir haben sie oft auch in Blutaussstrichen weiblicher Probanden angetroffen.

Leicht mit den Drumsticks zu verwechseln sind auch gewöhnliche Abschnürungen des Kerns, die sogenannten Minor lobes, die in Form und Größe den Drumsticks oft sehr ähnlich sind, meist aber 2 Verbindungen zum Kern aufweisen, keine so kompakte Struktur haben und nicht so intensiv angefärbt erscheinen wie die Drumsticks.

Zu erwähnen ist noch, daß die Drumsticks in einem Leucocytenkern nur in der Einzahl auftreten, während Small clubs und Sessile nodules oft in der Mehrzahl vorkommen. Auch diese Beobachtung ist eine Bestätigung dafür, daß nur die drumstickförmigen Kernanhängsel als Sexchromatin anzusprechen sind. Von Interesse in bezug auf die Identität des Drumsticks mit dem Sexchromatin im Gegensatz zu den anderen Kernanhängseln mag noch die Angabe von *Sun* und *Rakoff* (5) sein, die besagt, daß die Small clubs Feulgen-negativ sind! Wir haben nur wenige Blutausrichungen nach Feulgen gefärbt und dabei nur die Feulgen-positiven Drumsticks beachtet. *Wiedemann*, *Romatowski* und *Tolksdorf* (20) drücken sich bezüglich der Identität der Drumsticks mit dem Sexchromatin vorsichtiger aus. Sie sprechen vom Drumstick als «morphologischer Auswirkung der XX-Kombination». Nach den oben erwähnten Beobachtungen von *Davidson* und *Smith* scheint es uns sehr plausibel, daß es sich um dasselbe Substrat in anderer Erscheinungsform handelt und die quantitativen Diskrepanzen gegenüber den Verhältnissen an anderen Organen mit der Morphologie der Leucocytenkerne erklärbar sind.

Resultate:

Nach denselben Autoren lassen sich bei weiblichen Individuen im allgemeinen auf 500 neutrophile Leucocyten mindestens 6 Drumsticks nachweisen, das sind also 1,2%. *Wiedemann* und Mitarb. (20), die ein sehr umfangreiches Material geprüft haben, fanden bei weiblichen Probanden ca. 12 Drumsticks auf 500 Leucocyten, im einzelnen konnten sie aber eine Schwankungsbreite der Häufigkeit der Drumsticks zwischen einigen wenigen und 40—60 auf 500 Neutrophile feststellen. Im Durchschnitt erhielten sie 11,4 Drumsticks auf 500 Leucocyten (8). *Wiedemann* läßt aber alle irgendwie fraglichen Gebilde unberücksichtigt und zählt nur die eindeutig trommelschlegelförmigen Kernanhängsel. *Kosenow*, der alle fraglichen Gebilde mitzählt, — er sieht auch die Sessile nodules als weibliches Merkmal an — erhält im Durch-

schnitt 41,1 drumstickpositive Kerne auf 500 neutrophile Leucocyten, aber auch bei männlichen Probanden bis zu 8! Über die Auswertung im Einzelfall gibt er spezielle Hinweise.

Wir hielten uns an die Angaben von *Wiedemann, Tolksdorf* und *Romatowski* und zählten nur die ganz einwandfrei als Drumstick zu identifizierenden Kernanhängsel als weibliches Merkmal. Auf diese Art und Weise erhielten wir bei 42 weiblichen Kindern im Durchschnitt 13,5 Drumsticks auf 500 Neutrophile. Im einzelnen fanden wir Zahlen zwischen 1 und 51 für die drumstickpositiven Leucocytenkerne pro 500 Leucocyten. Nur in 2 Fällen fanden wir auf 500 Neutrophile keinen mit trommelschlegelförmigem Kernanhängsel, erst nach Auszählung von 900 bzw. 1000 Leucocyten begegnete uns das erste Drumstick. Wir werden auf diese 2 Fälle noch später zurückkommen. Bei den 33 Knaben, deren Blutausstriche wir durchsuchten, konnten wir nie einen Kern mit trommelschlegelförmigem Anhängsel finden.

Zähltechnik:

Übereinkunftsgemäß sollte man immer so lange zählen, bis man 5—6 Drumsticks gefunden hat. Findet man auf 500 Leucocyten weniger als 6 Drumsticks, sollte man bis zu dieser Anzahl weiterzählen. Unter bestimmten Umständen, auf die wir später noch zu sprechen kommen werden, ist die Anzahl der Drumsticks ungewöhnlich niedrig, so daß es in solchen Fällen wirklich auf eine möglichst umfassende Zählung ankommt, um das chromosomale Geschlecht festzustellen. Wir werden im folgenden Abschnitt über einige solche Fälle berichten.

Theoretisch sollte ein einziges Drumstick für das weibliche Geschlecht des betreffenden Individuums beweisend sein. *Wiedemann* und Mitarbeiter (21) haben jedoch festgestellt, daß ganz vereinzelt auch in Blutausstrichen männlicher Probanden mit den Drumsticks morphologisch vollkommen übereinstimmende Kernanhängsel vorkommen, von denen allerdings später *Kosenow* und *Scupin* (22) behaupteten, sie seien weniger farbbintensiv. Man könnte sich nach *Wiedemann, Romatowski* und *Tolksdorf* auch vorstellen, daß es sich bei einem vereinzelt Drumstick (z. B. 1 auf 1000 Neutrophile) um ein «ganz besonders groß ausgefallenes Small club» oder um ein Minor lobe von besonders starker Dichte und Undeutlichkeit der zweiten Kernverbindung handeln könnte. Wenn man es sich aber zur Regel macht, sich nicht mit der Beurteilung von 500 Neutrophilen zu begnügen, sondern so lange zu zählen, bis man 5 Drumsticks gefunden hat, wird man Fehldiagnosen trotz der eben genannten Schwierigkeiten vermeiden können.

Wir geben nun noch einige praktische Hinweise, die uns in der richtigen Beurteilung der Kernanhängsel gute Dienste geleistet haben: Man sollte auch bei dieser Methode, um Verwechslungen mit ähnlich aussehenden Gebilden zu vermeiden, nur gut erhaltene Leucocyten in die Zählung miteinbeziehen.

denn gerade durch Quetschung oder teilweise Zerreißung des Kerns kann, wie oben erwähnt, ein Small club einmal die Größe eines Drumsticks annehmen oder der Stiel eines Drumsticks so dick erscheinen, daß man es für ein Sessile nodule hält. Um die Größe eines trommelschlegelförmigen Kernanhngsels ungefähr beurteilen zu können, kann man den Vergleich mit der Größe einer Erythrocyten heranziehen. Der Kopf eines Drumsticks, der ca. $1,5 \mu$ im Durchmesser mit, soll mindestens der Größe eines Fünftels eines Erythrocyten entsprechen, eher mehr. Ein Small club mit ungefähr 1μ , also ein Siebentel eines Erythrocyten, eher weniger.

Durch eine dermaßen exakte Differenzierung ist uns in keinem einzigen Fall von männlichem Probanden auch nur *ein* Drumstick begegnet!

Zum Abschluß des methodischen Teiles wollen wir noch einmal betonen, daß es unserer Meinung nach gar nicht zur Diskussion steht, welche der beiden in einem klinischen Betrieb durchführbaren Methoden der chromosomalen Geschlechtsbestimmung besser oder verläßlicher sei, die Bestimmung aus den weißen Blutzellen oder aus den Schleimhautepithelzellen, wir sind vielmehr der Ansicht, daß zur Erlangung einer sicheren Diagnose in fraglichen Fällen die Durchführung beider Methoden notwendig ist.

Anwendung.

Die wichtigsten Anwendungsgebiete der chromosomalen Geschlechtsbestimmung.

Das genetische Geschlecht eines Individuums ist vom Augenblick der Befruchtung an determiniert (8) und in jeder Zelle des Organismus evident. Die Entwicklung der Keimdrüsen und erst recht der äußeren Genitalien setzt zu einem viel späteren Zeitpunkt ein, allerdings in direkter oder indirekter Abhängigkeit vom genetischen Geschlecht. Versuche von Jost (Paris) haben ergeben, daß sich das Genitale von frhkastrierten Embryonen immer in weiblicher Richtung entwickelt. Er schließt daraus, daß ohne Einwirkung von Hormonen das Weibliche dominiert. Beim Menschen imitiert die Natur dieses Experiment in dem Krankheitsbild der Gonadendysgenesie. Durch irgendeine wahrscheinlich frühembryonale Schädigung bleibt die Bildung der Gonadenanlage aus, das äußere Genitale entwickelt sich weiblich, auch wenn das chromosomale Geschlecht männlich ist. Das genetische Geschlecht hat also anscheinend einen direkten Einfluß auf die Differenzierung der Gonadenanlage, aber nur einen indirekten Einfluß auf die Entwicklungsrichtung der äußeren Genitalorgane, insofern diese durch die Hormone beeinflt wird.

Diese Feststellungen sind von prinzipieller Bedeutung für das Verständnis der Intersexbildungen beim Menschen. Aus dem Ge-

sagten geht aber auch hervor, wie wichtig es oft für die Aufklärung dieser Zustände ist, das chromosomale Geschlecht erkennen zu können. In den letzten Monaten und Jahren wurden in verschiedenen Kliniken und Forschungsinstituten eine große Anzahl von Intersexen, Pseudozwittern und Fällen von Genitalmißbildungen hinsichtlich ihres chromosomalen Geschlechtes getestet, und es konnten vielfach neue Gesichtspunkte der ätiologischen und endokrinologischen Verhältnisse gewonnen werden. Dies gilt vor allem für das obengenannte Krankheitsbild der Gonadendysgenese, für das Syndrom der testikulären Feminisierung und für das Klinefelter-Syndrom. Es ist hier nicht der Ort, das klinische Bild dieser Zustände in extenso zu beschreiben, wir wollen uns nur auf die im Hinblick auf das chromosomale Geschlecht interessierenden Gesichtspunkte beschränken.

Die *Gonadendysgenese*, früher Ovarialagenese oder Turner-Syndrom genannt, kommt, entgegen der früheren Ansicht, bei beiden Geschlechtern vor und bevorzugt sogar das männliche Geschlecht. *Wiedemann, Romatowski und Tolksdorf* (20) untersuchten die Blutaussstriche von 49 Fällen von Gonadendysgenese und fanden ein Verhältnis von 40 : 9 der chromosomal männlichen zu den chromosomal weiblichen Fällen. Auch *Sun und Rakoff* (5) sowie *Kosenow und Schönenberg* (7) fanden ein zugunsten des männlichen Geschlechtes verschobenes Verhältnis von männlichen zu weiblichen Gonadendysgenesiefällen. Wenn die typischen klinischen Symptome der Gonadendysgenese vorhanden sind (Pterygiumbildung, Kleinwuchs, schildförmiger Thorax, hypoplastische Mamillen, Osteoporose, eventuell Aortenisthmusstenose), ist die Diagnose nicht schwer schon im Kindesalter zu stellen. Sind die Symptome aber nicht so deutlich ausgeprägt oder z. T. gar nicht vorhanden, leistet die Diagnose des chromosomalen Geschlechts, wenn sie auf männlich lautet, einen wertvollen Beitrag zur Erkennung des Krankheitsbildes. Lautet sie auf weiblich, ist somit wenigstens eine Richtlinie zum Einschlagen einer dem Geschlecht entsprechenden Erziehungsrichtung und eventuell auch einer die Ausbildung der sekundären Geschlechtsmerkmale bewirkenden Therapierichtung gegeben. *Briggs und Kupperman* (19) berichten über 10 weibliche Fälle von Gonadendysgenese, wovon 8 im Blutaussstrich eine unglaublich hohe Anzahl von das weibliche Geschlechtsmerkmal enthaltenden Leucocytenkernen aufwiesen. Es wäre interessant, in einem solchen Fall auch die Mundschleim-

hautepithelzellkerne auf die Frequenz des Sexchromatins hin zu untersuchen, aber wir haben leider keinen weiblichen Fall von Gonadendysgenese zur Verfügung gehabt. Bei dem männlichen Fall von Gonadendysgenese, den wir untersucht haben, fiel uns auch ein außergewöhnlicher Reichtum an Kernanhängseln, vor allem an Small clubs, auf, der wohl mit der Übersegmentierung der Leucocyten, die wir in unserem Fall beobachten konnten, im Zusammenhang steht. Ob die Hypersegmentation der Neutrophilen etwas für die Gonadendysgenese Typisches ist, ist uns nicht bekannt. Es erscheint uns aber wahrscheinlich, da, wie wir früher erwähnt haben, die Drumstickanzahl und die Tendenz zur Anhängselbildung überhaupt, eine Funktion der Leucocytensegmentation ist und auch in unserem männlichen Fall eine deutliche Übersegmentierung festzustellen war.

Das Krankheitsbild *der testikulären Feminisierung* ist bis jetzt wenig beachtet worden. Die Pädiater vor allem haben es selten zu Gesicht bekommen, weil es meistens nicht so früh diagnostiziert wird. Jeder Fall von doppelseitiger Inguinalhernie bei einem Mädchen sollte den Verdacht auf testikuläre Feminisierung erwecken, insbesondere wenn in der Hernie ein «Ovar» palpiert werden kann. Dieses palpable Gebilde ist in solchen Fällen ein Hoden, und das chromosomale Geschlecht dieser scheinbaren Mädchen ist dementsprechend männlich. In klassischen Fällen bleibt in der Pubertät die Ausbildung der sekundären Geschlechtsmerkmale aus (sogenannte «hairless women»), es sind aber sogar Fälle beschrieben worden, in denen in der Pubertät eine Gynäkomastie auftrat. Die Nebennierenrinde ist unverändert, aber möglicherweise handelt es sich doch um eine echte Endokrinopathie. Einen anderen Versuch, dieses Krankheitsbild zu erklären, zeigt der Ausdruck «androgene Resistenz», womit gesagt werden soll, daß aus irgendeiner, vielleicht genetisch bedingten Ursache, die Erfolgsorgane, die sich ja, wie wir gehört haben, ohne Einfluß von Hormonen weiblich entwickeln, nicht ansprechbar sind für die männlichen Hormone der Gonaden. Für diese Entstehungstheorie sprechen auch das familiäre Vorkommen und der rezessiv geschlechtsgebundene Erbgang.

Wir konnten einmal die Diagnose testikuläre Feminisierung bei einem 6jährigen «Mädchen» mit beidseitiger Inguinalhernie auf Grund der chromosomalen Geschlechtsbestimmung stellen. Es handelte sich dabei nicht um eine «klassische» Form, sondern um eine sogenannte partielle testikuläre Femini-

sierung mit vermännlichtem äußeren Genitale und leichter Erhöhung der 17-Ketosteroide. Das äußere Genitale zeigte ein ca. 1½ cm langes penisartiges Gebilde ohne Öffnung am Ende. Die Öffnung der Urethra befand sich auch nicht am Grunde des Gliedes, sondern viel weiter rectalwärts. Man konnte weder Labien noch ein Scrotum feststellen. Beiderseits vor den Inguinalringen waren erbsengroße Körperchen palpabel, die die Konsistenz von Hoden hatten. Es erhebt sich die Frage, ob es sich bei diesem Fall nicht um einen (nicht hormonal ausgelösten!) Pseudohermaphroditismus masculinus im Sinne einer genetischen Intersexbildung handelt.

Die leichteste Form dieser Mißbildung, die Hypospadie mit beidseitigem Kryptorchismus, ist bekanntlich ein relativ häufiges Vorkommnis. Wir konnten auch einen solchen Fall hinsichtlich seines chromosomalen Geschlechtes testen und fanden selbstverständlich eindeutig männliche Verhältnisse. Es wäre ja denkbar, daß die testikuläre Feminisierung nichts anderes als eine hochgradige Form des Pseudohermaphroditismus masculinus ist, indem die sogenannten Inguinalhernien mit palpablen Gonaden nichts anderes als durch ungenügenden Descensus im Leistenring steckengebliebene Hoden wären. Interessant ist noch, daß das Knochenalter des 6½jährigen Kindes dem eines 3 Jahre und 10 Monate alten entsprach. Im Blutausstrich fanden wir kein einziges Drumstick, und auch im nach Feulgen gefärbten Mundschleimhautabstrich fand sich kein einziger Kern mit Sexchromatin. (Im Kresylechtviolettpräparat zählten wir 2 Kerne mit Sexchromatin-ähnlichen Gebilden.) Der histologische Befund der Keimdrüsen lautete auf normales Testisgewebe.

7 weitere Mädchen mit Inguinalhernien, deren chromosomales Geschlecht wir untersuchten, waren auch ihrem genetischen Geschlecht nach weiblich.

Beim *Klinefelter-Syndrom*, auf das wir später noch im Zusammenhang mit dem Hypogonadismus zu sprechen kommen werden, ist das chromosomale Geschlecht weiblich.

Einfluß pathologischer Zustände auf das Sexchromatin.

Von einigen Autoren wurde nämlich die Frage aufgeworfen, ob Hormone einen Einfluß auf die Morphologie des Sexchromatins ausüben oder nicht. Man könnte die Frage vielleicht besser so stellen: Haben Hormone einen Einfluß auf die Morphologie der Zelle, der sich in Veränderungen des Sexchromatins manifestiert? und weiter: Haben andere pathologische Zustände, vor allem genetisch bedingte, einen Einfluß auf die Zell- bzw. Zellkernmor-

phologie? Es ist nach dem jetzigen Stand der Kenntnisse und wegen des bis anhin noch allzu geringen Untersuchungsmaterials noch nicht möglich, diese Fragen zu beantworten. Manche Resultate der chromosomalen Geschlechtsbestimmung bei solchen Zuständen weisen auf die Möglichkeit einer derartigen Beeinflussung hin, und wir hoffen, durch die Veröffentlichung unserer Fälle einen kleinen Beitrag zur Klärung dieses Problems leisten zu können. *Briggs* und *Kupperman* (19) sind der Meinung, daß Endokrinopathien, besonders durch Hypophysendysfunktion bedingte, verantwortlich sind für eine Reduktion der Drumstickzahlen in den polymorphkernigen Leucocyten des peripheren Blutes. Sie beschreiben einen Fall von Morbus Cushing mit 2 Drumsticks auf 500 Leucocyten und einen Fall von weiblichem Adrenogenitalem Syndrom mit ebenfalls sehr reduzierter Anzahl der Trommelschlegel. *Moore, Graham* und *Barr* (4) hingegen haben an Tierversuchen gezeigt, daß die Sexualhormone keinen Einfluß auf die Morphologie des Sexchromatins haben. Auch unsere wenigen Fälle von endokrinen Störungen lassen keinen endgültigen Schluß auf eine Beeinflussung des Sexchromatins durch hormonale Dysfunktion zu.

Einfluß der Leucocytenmorphologie:

In einem Fall von Adrenogenitalem Syndrom bei einem Mädchen, das wegen seines zwittrigen äußeren Genitales bis zu seinem 4. Lebensjahr, also bis zu dem Zeitpunkt der Konsultation im Basler Kinderspital, als Knabe erzogen worden war (siehe Tab. Nr. 66), wurde bei der ersten Zählung auf 500 Leucocyten kein einziger Neutrophiler mit dem weiblichen Merkmal des Drumsticks gefunden, auf 900 fanden wir das erste Drumstick, auf 1500 Leucocyten schließlich doch 5 Drumsticks. Bei der zweiten Zählung — etwa 14 Tage später — konnten wir auf 500 Neutrophile 6 mit Drumstick feststellen, auf 1000 hatten wir schon 11 gezählt. Diese Diskrepanz läßt sich durch die bekannte Tatsache erklären, daß bei Linksverschiebung des Blutbildes, also bei Zunahme der stabkernigen und jugendlichen Neutrophilen, eine Abnahme der Kernanhängsel eintritt. Das Blutbild des Kindes wies zu dem Zeitpunkt der ersten Zählung eine starke Linksverschiebung mit 35,5% Stabkernigen auf, die 2 Wochen später nicht mehr vorhanden war. Mit Anfertigung eines Feulgen-Präparates aus dem Mundschleimhautabstrich, das 54% Kerne mit deutlichem

Sexchromatin aufwies, konnten wir die Diagnose «weiblich» eindeutig stellen und selbstverständlich auch einen hormonbedingten Einfluß auf die Morphologie, die Größe oder gar die Frequenz des Sexchromatins für unwahrscheinlich erklären. Die Tatsache, daß auch bei sehr niedrigen Drumstickzahlen die Quantität und das Aussehen des Sexchromatins in den Schleimhautepithelzellkernen unverändert und ohne Besonderheiten sind, spricht dafür, daß die Ursache für die quantitativen Schwankungen des Sexchromatins in Form der Drumsticks in der Beschaffenheit der Leucocytenkerne selbst bzw. deren wechselnder Tendenz zur Lappen- und Anhängselbildung zu suchen ist. Inwieweit diese eine Funktion verschiedener endogener Einflüsse ist, ist ein Problem, das uns in diesem Zusammenhang zu weit führen würde und zu den chromosomalen Geschlechtsmerkmalen in den Zellkernen nicht mehr viel Beziehung hat.

Niedrige Zahlen von Drumsticks auf 500 Leucocyten fanden wir außer bei diesem Fall noch in 4 anderen Fällen, bei denen zum Teil auch eine mehr oder weniger starke Linksverschiebung des weißen Blutbildes festzustellen war. Bei der mongoloiden Idiotie ist es ja z. B. bekannt, daß die neutrophilen Leucocyten wenig segmentiert sind.

So fanden wir bei einem solchen Fall (Tab. Nr. 50) nur 3 Drumsticks auf 500 Neutrophile, bei weiterer Zählung auf 800 Neutrophile erst 5. Außer dem Vorhandensein einiger jugendlicher weißer Blutzellen wurde im peripheren Blut keine nennenswerte Linksverschiebung festgestellt, doch genügt die geringe Segmentierung der segmentkernigen Leucocyten anscheinend, um die Drumsticks zum Verschwinden zu bringen. In diesem Fall könnte man von einer indirekten Beeinflussung des Sexchromatins via Kernmorphologie durch einen pathologischen Zustand sprechen.

Bei 2 Fällen von spastischem Säuglingserbrechen (Tab. Nr. 69 und 70) konnten wir auf 500 Neutrophile nur 2 bzw. 4 Drumsticks feststellen. Bei einem wies das Blutbild eine beträchtliche Linksverschiebung mit 20,5% Stabkernigen, 1% Metamyelocyten und nur 23% Segmentierten auf, bei dem anderen war das Blutbild vollkommen unauffällig.

Ein anderes Mädchen, an dessen Geschlecht anatomisch und klinisch nicht im mindesten gezweifelt werden konnte (Tab. Nr. 75), erstaunte uns zuerst durch das vollkommene Fehlen von trommelschlegelförmigen Kernanhängseln bei Auszählung von

500 und mehr neutrophilen Leucocyten. Auf 1000 Neutrophile entdeckten wir das erste Drumstick, auf 1650 hatten wir ein zweites gefunden. Das Blutbild des Kindes zeigte eine hochgradige Linksverschiebung mit 30,5% Stabkernigen. Der Mundschleimhautabstrich ließ 57% Sexchromatin-positive Kerne erkennen.

An dieser Stelle möchten wir noch einmal an die Tatsache der hohen Drumstickfrequenz bei der Gonadendysgenese erinnern, die ja auch nichts anderes als der Ausdruck der Abhängigkeit der Drumstickbildung von der Morphologie der Leucocytenkerne ist.

Genbedingte Einflüsse:

Ein weiterer Fall mit sehr reduzierter Drumstickzahl (4 bzw. 3 auf 500 Leucocyten) war ein kleines Mädchen mit wahrscheinlich primordialem Zwergwuchs und dysplastischem Habitus, Keilwirbelbildung, Kyphoskoliose, Stirnhöcker, Epicanthus und Hypertelorismus (Tab. Nr. 51). Sein Knochenalter entsprach mit 3 Jahren und 9 Monaten dem eines 15 Monate alten Kindes. Die 17-Ketosteroid-Ausscheidung war stark herabgesetzt (0,6 mg/24 Stunden). Zur Zeit der chromosomalen Geschlechtsbestimmung war keine nennenswerte Linksverschiebung des Blutbildes vorhanden. Bei diesem Fall ließe sich schon über eine endogene bzw. genbedingte Variation der Morphologie des Geschlechtschromatins diskutieren, die aber wahrscheinlich auch nur via Kernmorphologie zustande kommt, da die Verhältnisse in den Mundschleimhautabstrichen vollkommen unauffällig waren.

7 Fälle von Genitalmißbildungen zeigten normale Sexchromatinverhältnisse: 6 Knaben mit Hypospadie (Tab. Nr. 34—39), von denen einer noch andere Mißbildungen wie Analatresie und Aortenisthmusstenose aufwies (Tab. Nr. 39), waren auch ihrem genetischen Geschlecht nach männlich.

Ein Fall von Blasenectopie (Tab. Nr. 33) konnte von uns als weiblich erkannt werden, da wir im Blutausstrich 24 Drumsticks auf 500 Leucocyten zählen konnten und in einem damals noch mit Kresylechtviolett gefärbten Harnblasenabstrich 48% Kerne mit Sexchromatin fanden. Die äußeren Genitalien des Kindes waren rudimentär ausgebildet und sehr schwer zu identifizieren. Unterhalb der in der Bauchwand frei zutage liegenden Blase befand sich eine Öffnung, in die sich ca. 2 cm tief eine Sonde einführen ließ. Seitlich von dieser Öffnung erhoben sich 2 Schleimhauthöcker, die eventuell den kleinen Labien entsprochen haben könn-

ten. Ein Uterus war nicht zu palpieren. Bei der Operation fand man ein uterusähnliches Gebilde, das sich histologisch auch als Uterus erwies, Ovarien konnten hingegen nicht zu Gesicht gebracht werden.

Endokrine Einflüsse:

Bei dem folgenden Fall sind vielleicht sowohl genetische als auch endokrine Faktoren die Ursache für die herabgesetzte Drumstickfrequenz. Auch hier handelte es sich um eine angeborene Dysplasie (Tab. Nr. 52) mit leichtem Mikrocephalus, Debität, körperlichem Entwicklungsrückstand, hochgradiger Adipositas und hypoplastischem Genitale. Das 16½-jährige Mädchen litt an einer Amenorrhoe, 17-Ketosteroid- und FSH-Werte waren normal, auch die Serumelektrolyte zeigten keine Besonderheit. Auf der psychiatrischen Abteilung wurde eine Pfropfschizophrenie diagnostiziert. Wahrscheinlich handelte es sich um eine mit einer Erbkrankheit kombinierte Störung des Zwischenhirn-Hypophysen-Systems. Wir konnten im peripheren Blut, obwohl keine Linksverschiebung vorhanden war, nur 3 Drumsticks auf 500 Neutrophile feststellen, auf 900 zählten wir 7 Leucocytenkerne mit trommelschlegelförmigem Kernanhängsel. Im nach Feulgen gefärbten Mundschleimhautabstrich fanden wir 65% der Kerne mit Sexchromatin, also einen völlig unauffälligen und unzweideutigen Wert.

Bei einem weiblichen hypophysären Zwerg (Tab. Nr. 54) war die Zahl der Drumsticks auch sehr niedrig. Wir zählten auf 500 Neutrophile 2 trommelschlegelförmige Kernanhängsel. Um 6 Drumsticks zu finden, mußten wir 1700 Leucocyten auszählen. Die Mundschleimhautepithelzellen zeigten in 76% ihrer Kerne das Sexchromatin.

Bei einem anderen Fall mit niedriger Drumstickfrequenz handelte es sich auch um ein 17-jähriges Mädchen (Tab. Nr. 68). Der Habitus und das äußere Genitale waren unauffällig, die Ausbildung der Mammæ dem Alter entsprechend, ebenso die Scham- und Axillarbehaarung. Auffallend waren nur ein starker Bartwuchs und eine leichte Erhöhung der 17-Ketosteroide. Auf 500 neutrophile Leucocyten waren 4 Drumsticks zu finden, das nach Feulgen gefärbte Mundschleimhautpräparat ließ in 65% der Kerne das Sexchromatin erkennen.

Ein 13-jähriger Knabe, bei dem wir die Differentialdiagnose

zwischen leichter Nebennierenrindenhyperfunktion und Morbus Cushing zugunsten der ersteren entschieden (Erhöhung der 17-Ketosteroide, erniedrigte Kaliumwerte im Serum, Striae an den Hüften, aber keine Hypertonie, Hyperglycaemie und Osteoporose), wies keine Besonderheiten bezüglich Drumstick- und Sexchromatinverhältnisse auf (Tab. Nr. 67).

Außer dem oben erwähnten Fall (Tab. Nr. 66) von Adrenogenitalem Syndrom bei einem Mädchen untersuchten wir noch 2 weibliche und 2 männliche Fälle dieser Krankheit (Tab. Nr. 62—65) und konnten überall normale Verhältnisse, das heißt die nach dem klinischen Bild zu erwartende Diagnose ohne irgendwelche qualitative oder quantitative Besonderheiten, feststellen.

An dieser Stelle weisen wir noch einmal auf die 2 vorher erwähnten Fälle (Tab. Nr. 69 und 70) von spastischem Säuglingserbrechen hin, die verminderte Drumstickwerte aufwiesen, sei es durch die Linksverschiebung des Blutbildes, sei es durch endokrine Einflüsse.

In einem Fall von Pubertas praecox, wahrscheinlich durch intracraniellen Prozeß bedingt (Tab. Nr. 56), zeigten die Drumstickwerte keinerlei Besonderheit, obwohl die hormonalen Verhältnisse bei dem Kinde pathologisch waren. Die 17-Ketosteroid-Ausscheidung war stark erhöht (26,7 mg/24 Std.), die 17-Hydroxycorticoide erniedrigt, die Oestrogene an der unteren Grenze der Norm. Das 16jährige Mädchen wies eine Mikrocephalie bei linksseitigem Hydrocephalus internus und externus auf. Eine endgültige Diagnose konnte nicht gestellt werden. In diesem Zusammenhang interessiert uns aber nur die vollkommene Unauffälligkeit der Geschlechtschromatinverhältnisse bei hochgradiger endokriner Dysfunktion.

Unter den Fällen, bei denen wir das chromosomale Geschlecht geprüft haben, befanden sich 5 Knaben mit Hypogonadismus (Tab. Nr. 57—61), wovon einer auch eine leichte Gynäkomastie aufweis. Wir stellten eindeutig männliches chromosomales Geschlecht fest, indem wir niemals auch nur 1 Drumstick im peripheren Blut und höchstens 2% Schleimhautepithelzellkerne mit Sexchromatin fanden. Wir betonen diesen scheinbar selbstverständlichen Befund aus Gründen der Differentialdiagnose gegenüber dem Klinefelter-Syndrom, diesem merkwürdigen Krankheitsbild, das sich klinisch gar nicht von dem häufigen Hypogonadismus unterscheidet, aber durch eine Erhöhung der Gonadotropine und, wie ganz neue Be-

funde (vor allem von *Siebenmann*, Zürich) ergeben haben, auch durch die Diagnose des chromosomalen Geschlechts, das in diesen Fällen weiblich ist, erkannt werden kann. Die Biopsie der Testes zeigt degenerierte Keimzellen und Sertoli-Zellen, die Tunica propria der Samenkanälchen ist verdickt und hyalinisiert. Man könnte sich fragen, ob es sich bei diesen Gebilden überhaupt um Testes handle, da das chromosomale Geschlecht weiblich zu sein scheint.

Sonstige Einflüsse:

3 Mädchen, die in der Rekonvaleszenz nach spezifischen Lungen- bzw. Hilusdrüsenprozessen bei uns hospitalisiert waren (Tab. Nr. 71—73), zeigten eine bemerkenswerte Reduktion der drumstick-positiven Leucocyten, indem bei einem nur 4, bei dem anderen nur 3 und bei dem dritten gar nur 1 Drumstick auf 500 Leucocyten zu finden waren. Das Blutbild wies bei keinem eine Linksverschiebung auf. Ein tuberkulöser Knabe (Tab. Nr. 74) zeigte selbstverständlich keinerlei Besonderheit der Sexchromatinverhältnisse.

Die hohe Drumstickfrequenz bei weiblichen Neugeborenen, vor allem bei Frühgeburten, ist eine Tatsache, die in der Literatur schon vielfach beschrieben wurde. Auch wir konnten sie an 11 weiblichen Frühgeburten bestätigen (Tab. Nr. 11, 15, 17, 21, 22, 25, 26, 27, 28, 30, 31).

Zusammenfassung.

Es wird die Natur des Sexchromatins anhand von Beobachtungen aus der Literatur diskutiert, und anschließend werden die Probleme der praktischen Durchführung der chromosomalen Geschlechtsbestimmung nach verschiedenen Methoden erörtert. Es wird festgestellt, daß zu einer sicheren Diagnose unbedingt die Anwendung zweier Methoden nötig ist und die in einem klinischen Betrieb am einfachsten durchführbaren Methoden beschrieben: Die Bestimmung des chromosomalen Geschlechts aus den segmentkernigen Leucocyten und aus den Epithelzellen der Mundschleimhaut. Sodann werden die Vorteile der Feulgen-Färbung gegenüber der Kresylechtviolett-färbung dargestellt. Durch Beschreibung der Resultate bei einigen pathologischen Fällen wird die Frage der Beeinflussung des Sexchromatins durch genetische,

endokrine und andere Faktoren aufgeworfen und in der Richtung beantwortet, daß eine derartige Beeinflussung sicher vorhanden ist, aber wahrscheinlich indirekt via Kernmorphologie zustande kommt, da sie nur an den Kernen der neutrophilen Leucocyten, nicht aber an den Kernen des Schleimhautepithels evident ist.

Summary.

The nature of sex chromatin is discussed on the basis of observations from the literature, and problems of practical technique of chromosome sex determination by various methods are mentioned. It is concluded that, for a certain diagnosis, two methods are definitely necessary, and the simplest methods for a clinic are described: These are the determination of chromosomal sex from the segment-nuclear leucocytes and from the epithelial cells of the buccal mucosa. The advantages of Feulgen staining over those of cresyl true-violet staining are given. A description of the results in a few pathological cases arouse the question of the influencing of the sex chromatin by genetic, endocrine and other factors, and indicate that such an influencing is certainly active but probably indirectly via nuclear morphology, since it is only evident on the nuclei of neutrophile leucocytes and not on nuclei of the mucosal epithelium.

Résumé.

Etude de la nature de la chromatine sexuelle à partir d'observations publiées dans la littérature. Indications pratiques au sujet des différentes méthodes de recherche du sexe chromosomique. Pour arriver à poser un diagnostic sûr, il faut se baser sur deux méthodes, dont les suivantes sont parmi les plus simples à appliquer dans un service clinique : Recherche de la chromatine sexuelle au niveau des leucocytes et dans les cellules épithéliales de la muqueuse buccale. La coloration au Feulgen est préférable à celle à l'acétate de crésyl-violet.

Description de certains cas pathologiques qui permettent de poser le problème de l'influence de facteurs génétiques, endocriniens et autres sur la chromatine sexuelle. L'auteur pense que cette influence existe, mais qu'elle ne se manifeste qu'indirectement sur la morphologie nucléaire, car elle ne se retrouve qu'au niveau des leucocytes.

Literatur.

1. *Marberger, E.*, und *W. Nelson*: Geschlechtsbestimmung in der menschlichen Haut. *Bruns Beiträge* 190, 103, 1955. Ref. 28, 111. — 2. *Moore, K. L.*, und *M. L. Barr*: Nuclear Morphology, according to sex in human tissues. *Acta anat.* 21, 197, 1954. — 3. *Emery, J. L.*, und *M. McMillan*: Observations on the female Sexchromatin in human epidermis and on the value of skin biopsy in determining sex. *J. of Path.* 68, 17, 1954. — 4. *Moore, K. L.*, *M. A. Graham* und *M. L. Barr*: The detection of chromosomal sex in hermaphrodites from a skinbiopsy. *Surg. Gyn. and Obst.* 96, 641, 1953. — 5. *Lucille, C. Y.*, *Sun* und *A. E. Rakoff*: Evaluation of the peripheral blood smear test in the detection of chromosomal sex in the human. *J. clin. Endocrin.* 16, 55, 1956. — 6. *G. A. v. Harnack* und *H. N. Strietzel*: Die Altersabhängigkeit der geschlechtsbedingten Leucocytenmerkmale. *Klin. Wschr.* 34, 401, 1956. — 7. *Kosenow, W.*, und *H. Schönenberg*: Haematologische Geschlechtsbestimmung bei Gonadenagenesie. *Klin. Wschr.* 34, 1956, 53-54. — 8. *Tolksdorf, M.*, *H. Romatowski, M. Saile* und *H. R. Wiedemann*: Über Geschlechtsbestimmung aus dem Blutbilde und deren Anwendung beim Hermaphroditismus. *Ärzt. Wschr.* 10, 1955, 1029-1034. — 9. *Barr, M. L.*: Morphology of epidermal nuclei in hermaphrodites. *Anat. Rec.* 118, 1954, 280. — 10. *Davidson, W. M.*, und *D. R. Smith*: A morphological sex difference in the polymorphonuclear neutrophil leucocytes. *Brit. Med. J.* 1954/2, 6-7. — 11. *Rumphorst, K.*, und *H. H. Stange*: Über Geschlechtsbestimmungen bei Keimdrüsenfehlbildungen und Hermaphroditen. *Medizinische Nr.* 37, 1956, 1296-1299. — 12. *Tolksdorf, M.*, *H. Romatowski* und *H. R. Wiedemann*: Unsere bisherigen Ergebnisse mit der Geschlechtsbestimmung aus dem Blutaussstrich bei krankhaften Zuständen. *Medizinische* 1955, 1731. — 13. *Marberger, E.*, *R. A. Boccabella* und *Warren O. Nelson*: Oral smear as a method of chromosomal sex detection. *Proc. soc. exp. Biol. (N.Y.)* 89, 488, 1955. — 14. *Crouch, Y. F.*, und *M. L. Barr*: Behaviour of the sexchromatin during axonreaction. *J. of Neuropath.* 13, 353, 1954. — 15. *Wilkins, L.*, *M. M. Grumbach* und *J. J. van Wyk*: Chromosomal sex in Ovarian agenesis. *J. clin. Endocrin.* 14, 1270, 1954. — 16. *Graham, M. A.*: Sexchromatin in cell nuclei of the cat from the early embryo to maturity. *Anat. Rec.* 119, 469, 1954. — 17. *Hunter, W. F.*, *B. Lennox* und *M. G. Pearson*: Sexing skin. *Lancet* 1, 372, 1954. — 18. *Barr, M. L.*: Sexing skin. *Lancet* 1, 779, 1954. — 19. *Briggs, D. K.*, und *H. S. Kupperman*: Sex-differentiation by Leucocyte morphology. *Clin. Endocrin. and Metab.* 1956, Vol. 6. — 20. *Wiedemann, H. R.*, *H. Romatowski* und *M. Tolksdorf*: Geschlechtsbestimmung aus dem Blutbilde. *Münch. med. Wschr.* 33/34, 1090 und 1112, 1956. — 21. *Wiedemann, H. R.*, *H. Romatowski* und *M. Tolksdorf*: Geschlechtsbestimmung aus dem Blutaussstrich. *Klin. Wschr.* 33, 911, 1955. — 22. *Kosenow, W.*, und *R. Scupin*: Geschlechtsbestimmung auf Grund morphologischer Leucocytenmerkmale. *Klin. Wschr.* 34, 1/2, 51—53, 1956. — 23. *Lupatkin, M.*, und *A. Prader*: Welches ist die einfachste Methode zur Bestimmung des chromosomalen Geschlechtes? *Schweiz. Med. Wschr.* 86, 928-930, 1956. — 24. *Feulgen, R.*, und *H. Rossenbeck*: Mikroskopisch-chemischer Nachweis einer Nucleinsäure vom Typus der Thymonucleinsäure und die darauf beruhende elektive Färbung von Zellkernen in mikroskopischen Präparaten. *Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem.* 135, 203-248, 1924.

Adresse der Autorin: Dr. med. Erika Bühler-Zdansky, Oberdorfstr. 51, Riehen (Schweiz).

TABELLE.

Angegebenes Geschlecht	Blut- ausstrich Anzahl der Drumsticks auf 500 Neutrophile	Mundschleimhautabstrich % Epithelzellkerne mit Sexchromatin		Chromosomales Geschlecht	
		Feulgen	Kresylecht- violett		
Unspezifische Fälle.					
Nr. 1	weiblich	6	56	40	weiblich
Nr. 2	männlich	0	0	—	männlich
Nr. 3	männlich	0	0	—	männlich
Nr. 4	weiblich	5	63	—	weiblich
Nr. 5	weiblich	16	68	—	weiblich
Nr. 6	männlich	0	1	0	männlich
Nr. 7	männlich	0	0	—	männlich
Nr. 8	weiblich	6	75	40	weiblich
Nr. 9	weiblich	9	59	—	weiblich
Nr. 10	männlich	0	0	—	männlich
Frühgeburten.					
Nr. 11	weiblich	43	—	28	weiblich
Nr. 12	männlich	0	—	4	männlich
Nr. 13	weiblich	13	—	26	weiblich
Nr. 14	männlich	0	—	0	männlich
Nr. 15	weiblich	19	—	40	weiblich
Nr. 16	weiblich	9	—	16	weiblich
Nr. 17	weiblich	41	60	56	weiblich
Nr. 18	männlich	0	1	4	männlich
Nr. 19	männlich	0	0	2	männlich
Nr. 20	männlich	0	0	4	männlich
Nr. 21	weiblich	26	70	48	weiblich
Nr. 22	weiblich	27	65	56	weiblich
Nr. 23	männlich	0	1	2	männlich
Nr. 24	weiblich	12	59	32	weiblich
Nr. 25	weiblich	16	59	34	weiblich
Nr. 26	weiblich	27	57	56	weiblich
Nr. 27	weiblich	25	69	30	weiblich
Nr. 28	weiblich	31	65	32	weiblich
Nr. 29	männlich	0	2	10	männlich
Nr. 30	weiblich	29	58	38	weiblich
Nr. 31	weiblich	51	56	38	weiblich
Nr. 32	männlich	0	0	4	männlich
Blasenectopie.					
Nr. 33	weiblich	24	—	48	weiblich
(Harnblasenabstrich)					

Angegebenes Geschlecht	Blut- ausstrich Anzahl der Drumsticks auf 500 Neutrophile	Mundschleimhautabstrich % Epithelzellkerne mit Sexchromatin		Chromosomales Geschlecht
		Feulgen	Kresylecht- violett	

Hypospadie.

Nr. 34	männlich	0	—	2	männlich
Nr. 35	männlich	0	1	—	männlich
Nr. 36	männlich	0	0	—	männlich
Nr. 37	männlich	0	0	—	männlich
Nr. 38	männlich	0	0	—	männlich
Nr. 39	männlich	0	0	0	männlich

Pseudohermaphroditismus masculinus.

Nr. 40	?	0	1	0	männlich
(Urethralabstrich 0)					

Testikuläre Feminisierung.

Nr. 41	weiblich	0	0	2	männlich
--------	----------	---	---	---	----------

Mädchen mit Inguinalhernien.

Nr. 42	weiblich	6	54	49	weiblich
Nr. 43	weiblich	3	60	45	weiblich
auf 1130 5					
Nr. 44	weiblich	8	50	12	weiblich
Nr. 45	weiblich	8	56	20	weiblich
Nr. 46	weiblich	7	57	60	weiblich
Nr. 47	weiblich	21	53	46	weiblich
Nr. 48	weiblich	6	60	35	weiblich

Gonadendysgenese.

Nr. 49	weiblich	0	2	0	männlich
auf 1000 0					

Mongoloide Idiotie.

Nr. 50	weiblich	3	59	—	weiblich
auf 800 5					

Angegebenes Geschlecht		Blut- ausstrich Anzahl der Drumsticks auf 500 Neutrophile	Mundschleimhautabstrich % Epithelzellkerne mit Sexchromatin		Chromosomales Geschlecht
			Feulgen	Kresylecht- violett	
Dysplasien.					
Nr. 51	weiblich	1. Zählung: 4 auf 700 8 2. Zählung: 3 auf 700 6	68	14	weiblich
Nr. 52	weiblich	3 auf 900 7	65	58	weiblich
Nr. 53	männlich	0	0	—	männlich
Hypophysärer Kleinwuchs					
Nr. 54	weiblich	2 auf 1700 6	76	—	weiblich
Konstitutioneller Kleinwuchs.					
Nr. 55	männlich	0	1	—	männlich
Pubertas praecox durch intracraniellen Prozeß.					
Nr. 56	weiblich	9	63	—	weiblich
Hypogonadismus.					
Nr. 57	männlich	0	2	—	männlich
Nr. 58	männlich	0	—	0	männlich
Nr. 59	männlich	0	—	2	männlich
Nr. 60	männlich	0	0	4	männlich
Nr. 61	männlich	0	0	0	männlich
Adrenogenitales Syndrom.					
Nr. 62	männlich	0	0	2	männlich
Nr. 63	weiblich	16	73	—	weiblich
Nr. 64	weiblich	12	61	—	weiblich
Nr. 65	männlich	0	2	—	männlich
Nr. 66	männlich	1. Zählung: 0 auf 1500 5 2. Zählung: 6	54	38	weiblich
Leichte Nebennierenrindenhyperfunktion.					
Nr. 67	männlich	0	2	2	männlich
Nr. 68	weiblich	4 auf 1000 10	65	44	weiblich

Angegebenes Geschlecht		Blut- ausstrich Anzahl der Drumsticks auf 500 Neutrophile	Mundschleimhautabstrich % Epithelkerne mit Sexchromatin		Chromosomales Geschlecht
			Feulgen	Kresylecht- violett	
<i>Spastisches Säuglingserbrechen.</i> (mit Linksverschiebung)					
Nr. 69	weiblich	2 auf 700 6 (ohne Linksverschiebung)	61	—	weiblich
Nr. 70	weiblich	4 auf 800 5	56	—	weiblich
<i>Tuberkulose.</i> (keine Linksverschiebung)					
Nr. 71	weiblich	3 auf 1200 4	53	—	weiblich
Nr. 72	weiblich	4 auf 800 6	—	—	weiblich
Nr. 73	weiblich	1 auf 1500 4 auf 2100 6	58	12	weiblich
Nr. 74	männlich	0	0	0	männlich
<i>Infektiös-toxische Krämpfe.</i> (starke Linksverschiebung)					
Nr. 75	weiblich	0 auf 1650 2 auf 1000 1	57	57	weiblich

